



AI4

<p>(51) 国際特許分類7 C12N 15/48, A61K 31/7088, 48/00</p>		<p>A1</p>	<p>(11) 国際公開番号 WO00/31271</p> <p>(43) 国際公開日 2000年6月2日(02.06.00)</p>
<p>(21) 国際出願番号 PCT/JP99/06534</p> <p>(22) 国際出願日 1999年11月24日(24.11.99)</p> <p>(30) 優先権データ 特願平10/332760 1998年11月24日(24.11.98) JP</p> <p>(71) 出願人 (米国を除くすべての指定国について) 久光製薬株式会社 (HISAMITSU PHARMACEUTICAL CO., INC.)(JP/JP) 〒841-0017 佐賀県鳥栖市田代大官町408番地 Saga, (JP)</p> <p>(72) 発明者 ; および (75) 発明者／出願人 (米国についてのみ) 飯島 修(IJIMA, Osamu)[JP/JP] 後藤 武(GOTO, Takeshi)[JP/JP] 〒305-0856 茨城県つくば市観音台1丁目25番11号 久光製薬株式会社 筑波研究所内 Ibaraki, (JP) 島田 隆(SHIMADA, Takashi)[JP/JP] 〒113-0023 東京都文京区向丘1-20-6-801 Tokyo, (JP)</p> <p>(74) 代理人 村山みどり, 外(MURAYAMA, Midori et al.) 〒150-0013 東京都渋谷区恵比寿4丁目20番2号 恵比寿ガーデンテラス弐番館709 Tokyo, (JP)</p>		<p>(81) 指定国 AU, CA, JP, KR, US, 欧州特許 (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE)</p> <p>添付公開書類 国際調査報告書</p>	
<p>(54) Title: HIV INFECTION INHIBITORS</p> <p>(54) 発明の名称 HIV感染阻害剤</p> <p>(57) Abstract An antisense oligonucleotide characterized by being hybridizable specifically with chromosomal DNA and/or RNA encoding CXCR4 protein to thereby inhibit the expression of the CXCR4 protein; and HIV infection inhibitors containing this antisense oligonucleotide.</p>			

(57)要約

C X C R 4 蛋白をコードする染色体D N A および／またはR N A と特異的にハイブリダイズして、C X C R 4 蛋白の発現を阻害することを特徴とするアンチセンスオリゴヌクレオチドおよびこのアンチセンスオリゴヌクレオチドを含むH I V 感染阻害剤が開示されている。

PCTに基づいて公開される国際出願のパンフレット第一頁に掲載されたPCT加盟国を同定するために使用されるコード(参考情報)

AE アラブ首長国連邦	DM ドミニカ	KZ カザフスタン	RU ロシア
AL アルバニア	EE エストニア	LC セントルシア	SD スーダン
AM アルメニア	ES スペイン	LI リヒテンシュタイン	SE スウェーデン
AT オーストリア	FI フィンランド	LK スリ・ランカ	SG シンガポール
AU オーストラリア	FR フランス	LR リベリア	SI スロヴェニア
AZ アゼルバイジャン	GA ガボン	LS レソト	SK スロ伐キア
BA ボスニア・ヘルツェゴビナ	GB 英国	LT リトアニア	SL シエラ・レオネ
BB バルバドス	GD グレナダ	LU ルクセンブルグ	SN セネガル
BE ベルギー	GE グルジア	LV ラトヴィア	SZ スウェーデン
BF ブルガリア	GH ガーナ	MA モロッコ	TD チャード
BG ブルガリア	GM ガンビア	MC モナコ	TG トガ
BJ ベナン	GN ギニア	MD モルドバ	TJ タジキスタン
BR ブラジル	GW ギニア・ビサオ	MG マダガスカル	TZ タンザニア
BY ベラルーシ	GR ギリシャ	MK マケドニア旧ユーゴスラヴィア	TM トルクメニスタン
CA カナダ	HR クロアチア	共和国	TR トルコ
CF 中央アフリカ	HU ハンガリー	ML マリ	TT トリニダッド・トバゴ
CG コンゴー	ID インドネシア	MN モンゴル	UA ウクライナ
CH スイス	IE アイルランド	MR モーリタニア	UG ウガンダ
CI コートジボアール	IL イスラエル	MW マラウイ	US 米国
CM カメルーン	IN インド	MX メキシコ	UZ ウズベキスタン
CN 中国	IS アイスランド	NE ニジェール	VN ヴィエトナム
CR コスタ・リカ	IT イタリア	NL オランダ	YU ユーロースラビア
CU キューバ	JP 日本	NO ノルウェー	ZA 南アフリカ共和国
CY キプロス	KE ケニア	NZ ニュージーランド	ZW ジンバブエ
CZ チェコ	KG キルギスタン	PL ポーランド	
DE ドイツ	KP 北朝鮮	PT ポルトガル	
DK デンマーク	KR 韓国	RO ルーマニア	

明細書

HIV感染阻害剤

5 技術分野

本発明は、CXCR4蛋白をコードする染色体DNAおよび／またはRNAに対するアンチセンスオリゴヌクレオチドとそれを含むHIV感染阻害剤に関するものである。さらに詳しく言うと、本発明は、エイズ感染に関与する細胞側のレセプターであるCXCR4蛋白の染色体DNAおよび／またはRNAと特異的にハイブリダイズして、その発現を抑制することにより、HIV感染を阻害し得るアンチセンスオリゴヌクレオチドとそれを含むHIV感染阻害剤に関するものである。

背景技術

15 エイズはヒト免疫不全ウイルス（HIV）感染によって引き起こされ、細胞性免疫が著しい障害を受ける結果、種々の日和見感染、リンパ腫、神経障害等を発症して最終的には確実に死に至る疾患である。

現在の治療法としてはアジドチミジン（AZT）、ジデオキシノシン（ddI）、ジデオキシチジン（ddC）等の逆転写酵素阻害剤とサクシナビル、リトナビル、インディナビル等のプロテアーゼ阻害剤の単独、もしくは併用療法が報告されている（Hammer, S. M. et al., New Engl. J. Med., 335, 1081-1090, 1996）。ヌクレオシド系逆転写酵素阻害剤は、HIVが細胞に侵入した後、ウイルス自身の持つ逆転写酵素がウイルスの遺伝情報をRNAからDNAに変換する段階に作用して、ウイルスの染色体への組み込みを阻止するものである。しかし、これら逆転写酵素阻害剤およびプロテアーゼ阻害剤は、長期

投与によって容易に耐性ウイルスが出現し、薬剤が無効となる例がある (Shirasaka, T. et al., Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 92, 2398-2402, 1995; Condra, J. H. et al., Nature, 374, 569-571, 1995)。さらに、

5 細胞側のDNA代謝にも異常を引き起こすため、長期投与による貧血、白血球減少、恶心、頭痛、倦怠感、昏迷や筋炎などの副作用も数多く報告されており、新しい治療法の開発が強く望まれている。

HIVの主な標的細胞は、CD4陽性T細胞とマクロファージである。

HIVは大きく分けて、CD4陽性T細胞に感染するがマクロファージに10は感染しない株 (T細胞指向性HIV) 、マクロファージに感染するがCD4陽性T細胞には感染しない株 (マクロファージ指向性HIV) 、およびいずれの細胞にも感染できる株 (両指向性HIV) の3種類に分類される。以前よりHIVの細胞側のレセプターとしてCD4が知られているが、このHIVのT細胞指向性に関与する第2のレセプター (セカンドレセプター) が1996年に同定され、CXCR4と命名された (Feng, Y., et al., Science, 272, 872-877 (1996))。また、同時期にマクロファージ指向性HIVのセカンドレセプターとしてCCR5が同定された (Alkhatib, G. et al., Science, 272, 1955-1958, 1996)。これらセカンドレセプターは、20CD4と共にHIVが感染するために必須の細胞側因子であるが、本来は生体内で分泌されるケモカインに対する受容体であり、CXCR4のリガンドはSDF1、CCR5のリガンドはMIP-1 α 、MIP-1 β 、およびRANTESであることも明らかにされている。

HIV感染症に対する治療法に関しては、これまで多くの報告があるが、25HIVのゲノム遺伝子の変異は哺乳動物由来の細胞のゲノム遺伝子に比べて非常に高い確率で起こるために、HIVに対して特異的に作用する薬物を考案しても変異したHIVには作用できなくなってしまうという欠

点があった。このようなHIV側の因子を対象とした研究の方向性に対して、HIVの感染に関わる細胞側の因子を制御することでHIV感染症の治療を行なおうとする試みがなされるようになってきた。この方法は、細胞のゲノム遺伝子が変異を起こしにくいため、逆転写酵素阻害剤にみられるような耐性ウイルスが出現して薬剤が無効となる可能性が少ない。また、従来の抗HIV薬は細胞に感染後のウイルス自身に作用するものであったのに対し、この方法はHIVの感染段階を阻害するため、細胞自身にHIVの侵入がなく、細胞の生存率およびその機能を損なう可能性が少ない。

近年、これらセカンドレセプターに着目したHIV感染症治療の基礎的検討も数多く報告されるようになってきた。例えば、SDF1、MIP-1 α 、MIP-1 β およびRANTESは、レセプターを競合することによる拮抗阻害の様式で、それぞれT細胞指向性HIVおよびマクロファージ指向性HIVの感染を阻害すること (Bleul, C. C., et al., Nature, 829-833, 1996; Coccia, F., et al., Science, 270, 1811-1815, 1995)、そのアンタゴニストがHIVの感染を阻害することや、標的細胞内でケモカインを過剰発現させることで、細胞表面にレセプターを発現させない方法等が考えられている(Chen, J. D., et al., Nature Medicine, 3, 1110-1116, 1997)。しかし、ケモカインの大量投与は、HIV感染細胞を刺激する結果、大量のHIVを放出する可能性があり (Schmidt Mayerova, H., et al., Nature, 382, 767, 1996)、実際に治療に応用しようとする場合には効果に疑問がある。

本発明は、上記事情に鑑みてなされたものであり、HIVに感染する際の標的細胞のCXCR4蛋白の発現を抑制することにより、HIV感染を阻害し、エイズ感染を予防、治療することができるアンチセンスオリゴヌクレオチドおよびそれを含むHIV感染阻害剤を提供することを目的と

する。

発明の開示

本発明者らは、上述の課題を解決するために銳意研究した結果、CX
5 C R 4 蛋白の発現を特異的に抑制し、H I Vの細胞への感染を阻害するア
ンチセンス遺伝子配列を見い出すことに成功し、本発明を完成した。

すなわち、本発明者らは、CX C R 4 蛋白の発現を特異的に抑制するア
ンチセンスオリゴヌクレオチドとして、CX C R 4 蛋白をコードする遺伝
子を標的遺伝子とし、コーディング領域、G キャップ領域、開始コドン領
域等がハイブリダイズする可能性が高いこと (Takeuchi, K., et al., Experimental Medicine, 573-583, 1996) を考え合わせた上で検討を重ね、CX C R 4 の開始コドン領域
10 を選択し、本発明の完成に至った。

したがって、本発明は、CX C R 4 蛋白をコードする染色体DNAおよ
び/またはRNAと特異的にハイブリダイズして、CX C R 4 蛋白の発現
15 を阻害する、下記 (A) から (C) のいずれか1以上の配列を含むことを
特徴とするアンチセンスオリゴヌクレオチドである。

- (A) 配列表の配列番号1に記載の配列
- (B) 配列表の配列番号2に記載の配列
- 20 (C) 配列表の配列番号3に記載の配列

本発明はさらに、前記アンチセンスオリゴヌクレオチドを含むH I V感
染阻害剤である。

図面の簡単な説明

25 図1は、本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドのCX C R 4 蛋白発
現抑制効果を示すグラフである。

発明を実施するための最良の形態

以下、本発明を詳しく説明する。

本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドは、C X C R 4 蛋白をコードする染色体D N Aおよび／またはR N Aの一部の塩基配列に相補的なアンチセンスオリゴヌクレオチドである。本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドは、D N AであってもR N Aであってもよい。

本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドは、C X C R 4 蛋白をコードするm R N Aの遺伝子転写開始点を+1とした場合、+61から+96までの開始コドン領域を含む塩基配列に対して相補性を有するとともに、該配列と安定に特異的にハイブリダイズして蛋白への翻訳を遮断する結果、C X C R 4 蛋白の生合成を抑制する作用を有する。

本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドは、配列表の配列番号1～3に記載の配列のいずれか1以上を含むものであり、配列番号1を含むものであることがより好ましい。また、本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドは、配列番号1を含み、かつ、開始コドンを配列の中央に含むものであることが特に好ましい。配列番号1～3に記載の配列は、C X C R 4 蛋白遺伝子のアンチセンスD N A鎖を示しており、配列番号1は、配列番号5 (Nomura, H., et al., Int. Immunol., 5, 1239-1249, 1993)に記載のC X C R 4 蛋白のc D N Aの塩基配列の+67から+90に、配列番号2は同じく配列番号5の+73から+96に、配列番号3は同じく配列番号5の+61から+83に、それぞれ対応している。また、配列番号1は、C X C R 4 蛋白遺伝子の開始コドンをアンチセンスD N A鎖の中央に、配列番号2は同じくC X C R 4 蛋白遺伝子の開始コドンをアンチセンスD N A鎖の3'側に、配列番号3は同じくC X C R 4 蛋白遺伝子の開始コドンをアンチセンスD N A鎖の5'側に、それぞれ含む。

本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドの長さの上限は、DNA/RNA合成機での遺伝子合成効率が塩基数の増加と共に低下することや、合成コストの問題から、好ましくは100塩基以下であり、より好ましくは30塩基以下である。また、遺伝子の長さの下限は、アンチセンスオリゴ
5 ヌクレオチドの特異性を保持させるために、好ましくは8塩基以上であり、より好ましくは12塩基以上であり、特に好ましくは15塩基以上である。

本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドの合成の方法は特に限定されず、例えば、通常のオリゴヌクレオチド合成機を用いたホスホロアミダ
10 イド法により、ホスホロチオエート型やホスホトリエステル型のオリゴヌ
クレオチドを得ることができる。このような合成方法により得られるアン
チセンスオリゴヌクレオチドの例としては、ホスホジエステル型のオリゴ
ヌクレオチド、生体に投与した場合のヌクレアーゼによる分解を防ぐため
にリン酸基がイオウ原子により共有結合で修飾されたホスホロチオエー
ト型のオリゴヌクレオチド、リン酸骨格をメチル化したメチルホスホネー
15 ト型オリゴヌクレオチド、リン酸骨格の代わりにモルホリンが導入された
モルホリン骨格オリゴヌクレオチド、膜透過性を高める目的で脂溶性物質
のゲラニオールで修飾したオリゴヌクレオチド等を挙げることができる。

本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドは、HIV感染阻害剤として
用いることができる。この場合、本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチ
20 ドを単独で用いることもできるが、目的細胞に確実に導入し、生体内にお
ける分解を防ぐために、薬学的に許容される担体と組み合わせた組成物と
して使用することが可能である。担体は薬学的に許容される物質であれば
特に限定されないが、例えば、正電荷を有する高分子、リポソーム、マイ
クロスフィア等を好適に用いることができる。

25 正電荷を有する高分子としては、Tfx-50 (-10, -20) (プロメガ社製)、トランスフェクタム (和光純薬工業社製)、ExGen 5
00 (和光純薬工業社製)、合成ポリアミノ酸またはその誘導体、具体的

には、WO 95/09009号公報に記載のポリーリジン：セリン（PLS）、特開平9-176038号に記載のPLSのPEGブロック修飾体等を挙げることができる。

リポソームとしては、リポフェクチン（GIBCO社製）、リポフェクトアミン（GIBCO社製）、セルフェクチン（GIBCO社製）、DMRIE-C（GIBCO社製）等を挙げることができる。マイクロスフィアとしては、スーパーフェクト（QIAGEN社製）等を挙げができる。これらの薬学的に許容される担体と本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドは、公知の方法により複合体を形成することができる。

尚、本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドおよびHIV感染阻害剤の使用方法は特に限定はされないが、*in vivo*、*in vitro*、*ex vivo* 等いずれも使用可能である。

本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドは、遺伝子発現をプロモーションする遺伝子配列を含む遺伝子発現ベクターに挿入することにより、遺伝子治療用アンチセンスRNA発現構築物として使用することもできる。

遺伝子発現ベクターとしては、プラスミド、組み換えウイルス等を使用することができる。

プラスミドを遺伝子発現ベクターとして選択した場合は、プラスミド単独で用いることもできるが、ヌクレアーゼによる分解の防止および遺伝子発現効率の向上のためには、薬学的に許容される担体との複合体を形成した組成物として使用することが好ましい。また、組み換えウイルスは、哺乳動物由来の細胞、好ましくはヒト由来の細胞に感染可能であれば特に制限なく使用することが可能であり、マウス白血病ウイルス、アデノウイルス、アデノ関連ウイルス、ヒト免疫不全ウイルス、シンドビスウイルス、ヘルペスウイルス、センダイウイルス、エプスタインバーウイルスより選択することができ、これらの中でもマウス白血病ウイルス、アデノウイルス、アデノ関連ウイルス、ヒト免疫不全ウイルスは好ましく、ヒト免疫不

全ウイルスは特に好ましい。アンチセンスRNA発現遺伝子構築物の使用方法は特に限定されず、*in vivo*、*in vitro*、*ex vivo*等いずれも使用可能である。

実施例

5 以下、本発明を実施例によりさらに詳しく説明するが、これらの実施例は本発明の理解を助けるためのものであり、本発明の範囲を限定するものではない。

実施例 1

(アンチセンスオリゴヌクレオチドの合成及び精製)

10 配列表の配列番号1～3のアンチセンスオリゴヌクレオチドおよび配列番号4のDNA鎖は、DNA合成機を用い、ホスホアミダイト法によりホスホロチオエート型を合成し、さらにイオン交換FPLCを用い、公知の条件により精製した(Amersham Pharmacia Biotech社に依託)。

15 配列番号1～3は、CXCR4蛋白遺伝子のアンチセンスDNA鎖であり、配列番号1は配列番号5の+67から+90に、配列番号2は配列番号5の+73から+96に、配列番号3は配列番号5の+61から+83にそれぞれ対応する。

配列番号5は、CXCR4蛋白のcDNAの塩基配列(Nomura, H., et al., Int. Immunol., 5, 1239-1249, 1993)を示す。

また、配列番号4は、配列番号1～3の配列の長さとほぼ同一の24塩基であり、A、C、G、Tの含有率が配列番号1と同一になるように、配列番号1の配列をシャッフルさせた陰性対象群の合成DNA鎖である(比較例)。

実施例 2

(アンチセンスオリゴヌクレオチドと遺伝子導入試薬との複合体(HIV

感染阻害剤) の調製)

遺伝子導入製剤(薬学的に許容される担体)としてG I B C O社製のD M R I E - C 試薬を用いた。500 μ l のO p t i - M E M 培地(G I B C O社製)に、配列番号1～3のアンチセンスオリゴヌクレオチドをそれ 5 ぞれ2 μ Mとなるように調製し、A液とした。また、500 μ l のO p t i - M E M 培地に、D M R I E - C 試薬を20 μ g / m l となるように調 製し、B液とした。A液にB液を加え、緩やかに振盪した後、30分間室 温で放置することにより、アンチセンスオリゴヌクレオチド/D M R I E - C 複合体を得た。また、比較例として、配列番号4のD N A鎖を用い、 10 同様の複合体を得た。

試験例 1

(C X C R 4 蛋白発現抑制効果試験)

(A) 培養細胞へのアンチセンスオリゴヌクレオチドの導入

配列番号1～3のアンチセンスオリゴヌクレオチドおよび、配列番号4 15 のD N A鎖のC X C R 4 蛋白発現抑制効果を、培養細胞系において検討し た。

細胞は内因性のC X C R 4 蛋白を恒常に発現し、C D 4 蛋白を恒常に発現するようにC D 4 蛋白をコードする遺伝子を組み込んだH e L a 細胞を用いた(以下、C D 4 H e L a 細胞と言う)。C D 4 H e L a 細胞 20 を、37°C、5%CO₂の条件下で10%牛胎児血清(F C S : G I B C O社製)および抗生素質を添加したダルベッコ改良イーグル培地(D M E M : G I B C O社製)中において維持した。

このC D 4 H e L a 細胞を、6 ウェルプレートに5 × 10⁵個/ウェル となるように播種し、1晩培養した後、細胞をO p t i - M E Mで2回洗 25 浄し、実施例2で調製したアンチセンスオリゴヌクレオチド/D M R I E - C 複合体を1 m l 添加した。37°C、5%CO₂の条件下で4時間培養 した後、10%F C Sを含む5 m l のD M E Mを加え、37°C、5%CO

₂の条件下でさらに培養した。

(B) CXCR4蛋白の蛍光抗体法による検出

上記(A)においてアンチセンスオリゴヌクレオチドを導入した細胞を、24時間後に採取し、CXCR4に対するモノクロナール抗体 (Phar-Mingen社製) で処理した後、FITC標識した2次抗体 (Jackson Immuno Research社製) で染色した。染色した細胞を、FACSCaliburフローサイトメーター (Becton Dickinson社製) を用いてCXCR4陽性細胞の比率を解析した。結果を図1に示す。

10 アンチセンスオリゴヌクレオチド非投与群および配列番号4 (比較例) では、24時間の培養期間においてCXCR4陽性細胞の比率に変化がなかったが、配列番号1～3のアンチセンスオリゴヌクレオチド投与群では、24時間の培養期間においてCXCR4陽性細胞の比率が著しく減少した。特に、翻訳開始コドンをアンチセンスDNA鎖の中央に含む、配列番号1のアンチセンスオリゴヌクレオチドが最もCXCR4陽性細胞の比率を減少させた。この結果から、本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドは、CXCR4蛋白の発現抑制効果が非常に優れていることが判明した。

産業上の利用可能性

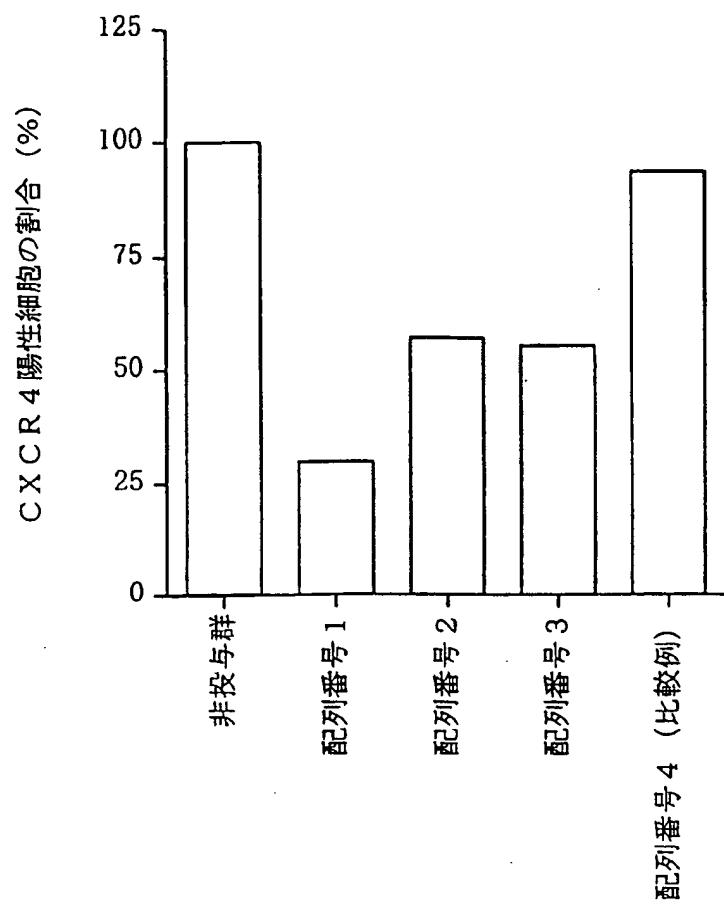
20 以上説明した通り、本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドは、CXCR4蛋白の発現を抑制し、HIVの感染を阻害することができる。従って、本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドおよびそれを含むHIV感染抑制剤は、HIV感染の予防及び治療薬として非常に有効である。

請 求 の 範 囲

1. CXCR4蛋白をコードする染色体DNAおよび／またはRNAと特異的にハイブリダイズし、CXCR4蛋白の発現を阻害する、下記(A)から(C)のいずれか1以上の配列を含むことを特徴とするアンチセンスオリゴヌクレオチド。
 - (A) 配列表の配列番号1に記載の配列
 - (B) 配列表の配列番号2に記載の配列
 - (C) 配列表の配列番号3に記載の配列
2. 請求の範囲第1項記載のアンチセンスオリゴヌクレオチドを含むHIV感染阻害剤。

1 / 1

図 1



(配列表)

配列番号：1

配列の長さ：24

配列の型：核酸

5 鎮の数：一本鎮

トポロジー：直鎖状

配列の種類：合成DNA

アンチセンス：YES

配列の特徴：配列番号5の+67から+90に対応

10 配列

CTGATCCCCCTCCATGGTAACCGCT

配列番号：2

配列の長さ：24

15 配列の型：核酸

鎮の数：一本鎮

トポロジー：直鎖状

配列の種類：合成DNA

アンチセンス：YES

20 配列の特徴：配列番号5の+73から+96に対応

配列

TATATACTGATCCCCCTCCATGGTA

配列番号：3

25 配列の長さ：23

配列の型：核酸

鎖の数：一本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：合成DNA

アンチセンス：YES

5 配列の特徴：配列番号5の+61から+83に対応

配列

CCTCCATGGTAACCGCTGGTTCT

配列番号：4

10 配列の長さ：24

配列の型：核酸

鎖の数：一本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：合成DNA

15 アンチセンス：NO

配列の特徴：配列番号1の配列をシャッフルした合成DNA

配列

AACTCCCTTGGTGCTCCTACACGC

20 配列番号：5

配列の長さ：1664

配列の型：核酸

鎖の数：一本鎖

トポロジー：直鎖状

25 配列の種類：cDNA

アンチセンス：NO

配列の特徴 : CXCR4のcDNA

配列

CGGCAGCAGG	TAGCAAAGTG	ACGCCGAGGG	CCTGAGTGCT	40	
CCAGTAGCCA	CCGCATCTGG	AGAACCCAGCG	GTTACCATGG	80	
5	AGGGGATCAG	TATATACACT	TCAGATAACT	ACACCGAGGA	120
	AATGGGCTCA	GGGGACTATG	ACTCCATGAA	GGAACCCCTGT	160
	TTCCGTGAAG	AAAATGCTAA	TTTCAATAAA	ATCTTCCTGC	200
	CCACCATCTA	CTCCATCATC	TTCTTAAC TG	GCATTGTGGG	240
	CAATGGATTG	GTCATCCTGG	TCATGGGTTA	CCAGAAGAAA	280
10	CTGAGAAGCA	TGACGGACAA	GTACAGGCTG	CACCTGTCAG	320
	TGGCCGACCT	CCTCTTTGTC	ATCACGCTTC	CCTTCTGGGC	360
	AGTTGATGCC	GTGGCAA ACT	GGTACTTTGG	GAAC TT C C T A	400
	TGCAAGGCAG	TCCATGTCAT	CTACACAGTC	AACCTCTACA	440
	GCAGTGT C C T	CATCCTGGCC	TT CATCAGTC	TGGACCGCTA	480
15	CCTGGCCATC	GTCCACGCCA	CCAACAGTCA	GAGGCCAAGG	520
	AAGCTGTTGG	CTGAAAAGGT	GGTCTATGTT	GGCGTCTGGA	560
	TCCCTGCCCT	CCTGCTGACT	ATTCCCGACT	TCATCTTTGC	600
	CAACGTCAGT	GAGGCAGATG	ACAGATATAT	CTGTGACCGC	640
	TTCTACCCCCA	ATGACTTGTG	GGTGTTGTG	TTCCAGTTTC	680
20	AGCACATCAT	GGTTGGCCTT	ATCCTGCCTG	GTATTGTCAT	720
	CCTGT C C T G C	TATTGCATTA	TCATCTCCAA	GCTGTCACAC	760
	TCCAAGGGCC	ACCAGAAGCG	CAAGGCCCTC	AAGACCACAG	800
	TCATCCTCAT	CCTGGCTTTC	TTCGCCTGTT	GGCTGCCTTA	840
	CTACATTGGG	ATCAGCATCG	ACTCCTTCAT	CCTCCTGGAA	880
25	ATCATCAAGC	AAGGGTGTGA	GTTTGAGAAC	ACTGTGCACA	920
	AGTGGATTTC	CATCACCGAG	GCCCTAGCTT	TCTTCCACTG	960

TTGTCTGAAC CCCATCCTCT ATGCTTCCT TGGAGCCAAA 1000
TTTAAACCT CTGCCAGCA CGCACTCACC TCTGTGAGCA 1040
GAGGGTCCAG CCTCAAGATC CTCTCCAAAG GAAAGCGAGG 1080
TGGACATTCA TCTGTTCCA CTGAGTCTGA GTCTTCAAGT 1120
5 TTTCACTCCA GCTAACACAG ATGTAAAAGA CTTTTTTTA 1160
TACGATAAAAT AACTTTTTT TAAGTTACAC ATTTTCAGA 1200
TATAAAAGAC TGACCAATAT TGTACAGTTT TTATTGCTTG 1240
TTGGATTTT GTCTTGTGTT TCTTAGTTT TTGTGAAGTT 1280
TAATTGACTT ATTTATATAA ATTTTTTTG TTTCATATTG 1320
10 ATGTGTGTCT AGGCAGGACC TGTGGCCAAG TTCTTAGTTG 1360
CTGTATGTCT CGTGGTAGGA CTGTAGAAAA GGGAACTGAA 1400
CATTCCAGAG CGTGTAGTTA ATCACGTAAA GCTAGAAATG 1440
ATCCCCAGCT GTTATGCAT AGATAATCTC TCCATTCCCG 1480
TGGAACGTTT TTCCTGTTCT TAAGACGTGA TTTGCTGTA 1520
15 GAAGATGGCA CTTATAACCA AAGCCCAAAG TGGTATAGAA 1560
ATGCTGGTTT TTCAGTTTC AGGAGTGGGT TGATTCAGC 1600
ACCTACAGTG TACAGTCTTG TATTAAGTTG TTAATAAAAG 1640
TACATGTTAA ACTTAAAAAA AAAA 1664

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP99/06534

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
Int.Cl⁷ C12N 15/48, A61K 31/7088, A61K 48/00

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl⁷ C12N 15/48, A61K 31/7088, A61K 48/00

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
CA (STN) , MEDLINE (STN) , REGISTRY (STN) ,
WPI (DIALOG) , BIOSIS (DIALOG)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	N.Suzuki et al., "Inhibition of human immunodeficiency virus type-1 infection by a recombinant HIV vector expressing antisense-CXCR4", Journal of the American Society of Hematology (1998), Vol.92, No.10, Suppl.1, p.386b	1,2
Y	Hideki Homura et al., "Molecular cloning of cDNAs encoding a LD78 receptor and putative leukocyte chemotactic peptide receptors", International Immunology (1993), Vol.5, No.10, p.1239-1249	1,2
PX	Akiko Kusunoki et al., "Antisense oligodeoxynucleotide complementary to CXCR4 mRNA block replication of HIV-1 in cos cells", Nucleosides & Nucleotides (June,July 1999) , Vol.18, No.6/7, p.1705-1708	1,2
PX	WO, 99/51751, A1 (YAMANOUCHI PHARM CO.LTD.) , 14 October, 1999 (14.10.99) & JP, 11-292795, A	1,2
PX	JP, 11-285391, A (HISAMITSU PHARMACEUTICAL CO., INC.) , 19 October, 1999 (19.10.99) (Family: none)	1,2

Further documents are listed in the continuation of Box C. See patent family annex.

* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier document but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family
-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

Date of the actual completion of the international search
18 February, 2000 (18.02.00)

Date of mailing of the international search report
29 February, 2000 (29.02.00)

Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Faxsimile No.

Telephone No.

国際調査報告

国際出願番号 PCT/JP99/06534

A. 発明の属する分野の分類(国際特許分類(IPC))

Int.Cl' C12N 15/48, A61K 31/7088, A61K 48/00

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料(国際特許分類(IPC))

Int.Cl' C12N 15/48, A61K 31/7088, A61K 48/00

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

国際調査で使用した電子データベース(データベースの名称、調査に使用した用語)

CA(STN), MEDLINE(STN), REGISTRY(STN),

WPI(DIALOG), BIOSIS(DIALOG)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
Y	N. Suzuki et al., "Inhibition of human immunodeficiency virus type-1 infection by a recombinant HIV vector expressing antisense-CXCR4", Journal of the American Society of Hematology (1998), Vol. 92, No. 10, Suppl. 1, p. 386b	1, 2
Y	Hideki Homura et al., "Molecular cloning of cDNAs encoding a LD78 receptor and putative leukocyte chemotactic peptide receptors", International Immunology (1993), Vol. 5, No. 10, p. 1239-1249	1, 2

 C欄の続きにも文献が列挙されている。 パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの

「E」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの

「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献(理由を付す)

「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献

「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの

「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの

「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの

「&」同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日 18. 02. 00	国際調査報告の発送日 29.02.00
国際調査機関の名称及びあて先 日本国特許庁 (ISA/JP) 郵便番号 100-8915 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号	特許庁審査官(権限のある職員) 小暮 道明 4 B 9358 電話番号 03-3581-1101 内線 3448

C (続き) 関連すると認められる文献		関連する請求の範囲の番号
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	
P X	Akiko Kusunoki et al., "Antisense oligodeoxynucleotide complementary to CXCR4 mRNA block replication of HIV-1 in cos cells", Nucleosides & Nucleotides (June, July 1999), Vol. 18, No. 6/7, p. 1705-1708	1, 2
P X	WO, 99/51751, A1 (YAMANOUCHI PHARM CO. LTD.) 14. 10月. 1999 (14. 10. 99) & JP, 11-292795, A	1, 2
P X	JP, 11-285391, A (久光製薬株式会社) 19. 10月. 1999 (19. 10. 99) ファミリーなし	1, 2